

吴茱萸碱与吴茱萸次碱对T2DM SD大鼠肝损伤的影响

刘万丽¹, 邵进明¹, 易梦¹, 鲁道旺^{2*}

¹贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳

²铜仁学院材料与化工学院, 贵州 铜仁

收稿日期: 2024年12月25日; 录用日期: 2025年1月10日; 发布日期: 2025年1月20日

摘要

目的: 本研究旨在评估吴茱萸碱(Evodiamine, EVO)与吴茱萸次碱(Rutaecarpine, RUT)对2型糖尿病(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)SD大鼠肝损伤的治疗潜力。方法: 通过高脂高糖饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)的方法, 建立了T2DM大鼠肝损伤模型。实验选取了35只健康SPF级SD雄性大鼠, 并随机分为空白组、模型组、盐酸二甲双胍组(MET), EVO组和RUT组。给药4周后, 测定了各组大鼠的FBG、血脂四项、肝糖原、肝糖原合成酶(GS)、葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-Pase)及天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平, 并结合肝脏组织病理学分析进行了综合评估。结果: 与模型组相比, EVO和RUT显著降低FBG, 缓解体重减轻, 改善血脂代谢, 调节肝脏糖代谢(肝糖原、GS、G-6-Pase水平下降), 降低AST水平, 表明具有保肝作用。肝脏组织病理学分析显示, EVO和RUT能减轻肝细胞脂肪变性和炎症浸润, 增加肝糖原沉淀, 有效缓解肝损伤。结论: 吴茱萸碱(EVO)与吴茱萸次碱(RUT)对T2DM大鼠肝损伤具有显著治疗潜力, 能降血糖、调血脂、调节肝脏糖代谢并保护肝脏组织, 为2型抗糖尿病药物开发提供实验依据。

关键词

吴茱萸碱, 吴茱萸次碱, 2型糖尿病, 肝损伤

The Effect of Evodiamine and Rutaecarpine Hypoallergenic on Liver Injury in T2DM SD Rats

Wanli Liu¹, Jinming Shao¹, Meng Yi¹, Daowang Lu^{2*}

¹School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²School of Materials and Chemical Engineering, Tongren College, Tongren Guizhou

Received: Dec. 25th, 2024; accepted: Jan. 10th, 2025; published: Jan. 20th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 刘万丽, 邵进明, 易梦, 鲁道旺. 吴茱萸碱与吴茱萸次碱对 T2DM SD 大鼠肝损伤的影响[J]. 生物医学, 2025, 15(1): 152-158. DOI: 10.12677/hjbm.2025.151017

Abstract

Objective: The aim of this study was to evaluate the therapeutic potential of Evodiamine (EVO) versus Rutaecarpine (RUT) on liver injury in SD rats with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). **Methods:** A liver injury model of T2DM rats was established through a combination of feeding a high-fat, high-sugar diet and intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). In the experiment, 35 healthy male SPF-grade SD rats were selected and randomly divided into a blank group, a model group, a metformin hydrochloride group (MET), an EVO group, and a RUT group. After 4 weeks of drug administration, the levels of fasting blood glucose (FBG), four blood lipid parameters, liver glycogen, glycogen synthase (GS), glucose-6-phosphatase (G-6-Pase), and aspartate aminotransferase (AST) were measured in each group of rats. A comprehensive evaluation was conducted in combination with histopathological analysis of liver tissues. **Results:** Compared with the model group, EVO and RUT significantly reduced FBG, alleviated weight loss, improved lipid metabolism, regulated hepatic glucose metabolism (decreased levels of hepatic glycogen, GS, and G-6-Pase), and lowered the level of AST, indicating hepatoprotective effects. Histopathological analysis of the liver showed that EVO and RUT reduced hepatocyte steatosis and inflammatory infiltration, increased hepatic glycogen deposition, and effectively alleviated liver injury. **Conclusion:** Ergometrine (EVO) and rutabine (RUT) have significant therapeutic potential for liver injury in T2DM rats, lowering blood glucose, regulating blood lipids, modulating hepatic glucose metabolism, and protecting liver tissues, which provides an experimental basis for the development of type 2 antidiabetic drugs.

Keywords

Evodiamine, Rutaecarpine, T2DM, Liver Injury

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

2型糖尿病(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)是一种慢性的代谢性疾病,其发病机制核心在于胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能障碍[1]。长期的高血糖状态会对机体的多个脏器产生损害,导致一系列并发症的发生,包括但不限于糖尿病视网膜病变[2]、糖尿病周围神经病变[3]、糖尿病肾病[4]、以及糖尿病性肝病[5]等。其中,糖尿病性肝病作为T2DM的一种重要并发症,其发生机制与糖脂代谢紊乱紧密相连,这种紊乱导致糖原及脂质在肝细胞内过度积累,进而对肝细胞造成损伤[6]。

吴茱萸碱(Evodiamine)与吴茱萸次碱(Rutaecarpine)均源自芸香科吴茱萸属植物,属于吲哚喹啉类生物碱[7],具有广泛的药理学特性。具体而言,吴茱萸碱具备显著的抗菌、抗炎及抗肿瘤活性[8];而吴茱萸次碱则表现出抗炎、抗脂毒性、抗癌以及保肝等多方面的药理作用[9]。目前关于吴茱萸碱、吴茱萸次碱对T2DM肝损伤的研究较少。因此,本研究旨在通过高脂高糖饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)的方法建立T2DM大鼠肝损伤模型,以进一步探究吴茱萸碱与吴茱萸次碱分别对该并发症的治疗潜力。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

健康SPF级SD雄性大鼠35只,体质量180~240 g,购买于贵州中医药大学动物研究所(动物许可证号: syxk(黔)2021-0005;伦理审查编号: 20230054)。动物实验在贵州中医药大学动物研究所进行。饲养

环境：温度 21℃，相对湿度 50%，通风良好，自然采光的标准条件下，自由摄食饮水。动物分笼饲养，每笼 3~4 只，保持饲养环境干净卫生，垫料定期更换。高脂高糖饲料、普通饲料(北京博泰宏达生物)；链脲佐菌素(上海麦克林生化科技股份有限公司)；0.1 mol/L pH 4.5 柠檬酸 - 柠檬酸钠缓冲液(上海源叶生物科技有限公司)；盐酸二甲双胍片(0.25 g/片，重庆科瑞制药有限公司)；肝糖原、肝糖原合成酶(GS)、葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-Pase)ELISA 检测试剂盒(上海茁彩生物科技有限公司)。

590 型血糖仪(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司)；兽用生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)；掌上离心机(美国 SCLOGEX)；低速台式离心机(长沙高新技术湘仪离心机仪器有限公司)；移液枪(大龙新创实验仪器有限公司)。

2.2. 实验方法

2.2.1. 2 型糖尿病 SD 大鼠模型的建立

将 35 只 SPF 级 SD 雄性大鼠随机抽取 7 只作为空白组，空白组普通饲料喂养，其余 28 只通过高脂高糖饲料喂养一个月后(体重趋于稳定)，禁食不禁水 12 h，腹腔注射 1% STZ 溶液(在 4℃ 的水浴中，将链脲佐菌溶于 0.1 mol/L、pH = 4.5 的柠檬酸钠缓冲液，制成 1% 的溶液) 35 mg/kg，空白组腹腔注射相应体重的柠檬酸钠缓冲液，1 周后大鼠禁食不禁水 8 h，取尾静脉血测空腹血糖，血糖值 ≥ 11.1 mmol/L 者为成功诱导出具有高血糖、高血脂、胰岛素抵抗的 T2DM SD 雄性大鼠模型。

2.2.2. 实验分组及给药方案

将造模成功的 SD 雄性大鼠随机分为 5 组，即模型组、阳性对照组(MET)、吴茱萸碱组(EVO)、吴茱萸次碱组(RUT)，7 只/组。空白对照组和模型组灌胃给予 10 ml/kg 生理盐水，其余各组分别给予 20 mg/kg 吴茱萸碱、25 mg/kg 吴茱萸次碱、180 mg/kg 盐酸二甲双胍 10%吐温-80 溶液灌胃。每组每日给药一次，连续给药 4 周。

2.2.3. 血糖水平

各组大鼠在给药前、给药后每周采用血糖仪试纸法测定空腹血糖(FBG)，采血当天给药前各组大鼠禁食不禁水 12 h，次日早晨抽取大鼠尾部静脉血测定 FBG 并记录。

2.2.4. 血清生化指标

第 5 周末次给药后大鼠禁食不禁水 12 h，麻醉，解剖腹主动脉取血，室温静置 2 h 后 3000 r/min 离心 20 min 取上清液。TC、TG、HDL-C、LDL-C、AST 等含量由生物分析仪检测；肝糖原、葡萄糖-6-磷酸酶、肝糖原合成酶等含量，严格按照试剂盒说明书采用酶联免疫法测定。

2.2.5. 病理切片

将各组大鼠肝脏组织于 4%多聚甲醛固定液中固定，取出对其进行修剪，脱水，石蜡包埋切片，进行 HE、PAS 染色，最后显微镜下观察、拍照，并对其病理形态学进行分析。

2.2.6. 统计学分析

使用 Excle 软件进行数据录入整理，采用 Origin 2022 统计软件进行数据处理分析，实验数据以均数和标准差($\bar{X} \pm S$)表示。将实验数据进行多组间样本对比采用单因素方差(ANOVA)分析，并采用 LSD 检验；结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果与分析

3.1. 对 T2DM 大鼠 FBG 水平和体重的影响

T2DM 最主要的特征就是高血糖、体重减少。如图 1 所示，与空白组相比，造模后各组大鼠其随机

血糖水平均呈现出显著的上升趋势,且体重也普遍出现了不同程度的下降;给药后与模型组相比,各治疗组 T2DM 大鼠在不同时间点所测得的空腹随机血糖水平均有不同程度的降低,值得注意的是,随着给药时间的延长,不仅血糖水平持续下降,而且大鼠体重的减少速度也明显放缓,其中吴茱萸次碱效果最好。结果表明 EVO、RUT 能调控 T2DM SD 大鼠的血糖,还能在一定程度上缓解体重的非正常减轻。

3.2. 对 T2DM 大鼠血脂的影响

如图 2 所示,与空白组相比,模型组的 TC、TG、LDL-C 水平均出现了极为显著的上升($P < 0.001$),

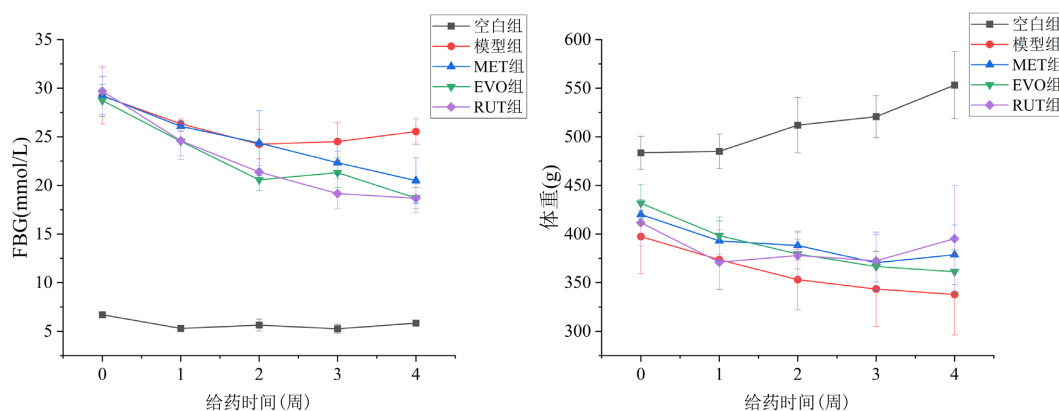
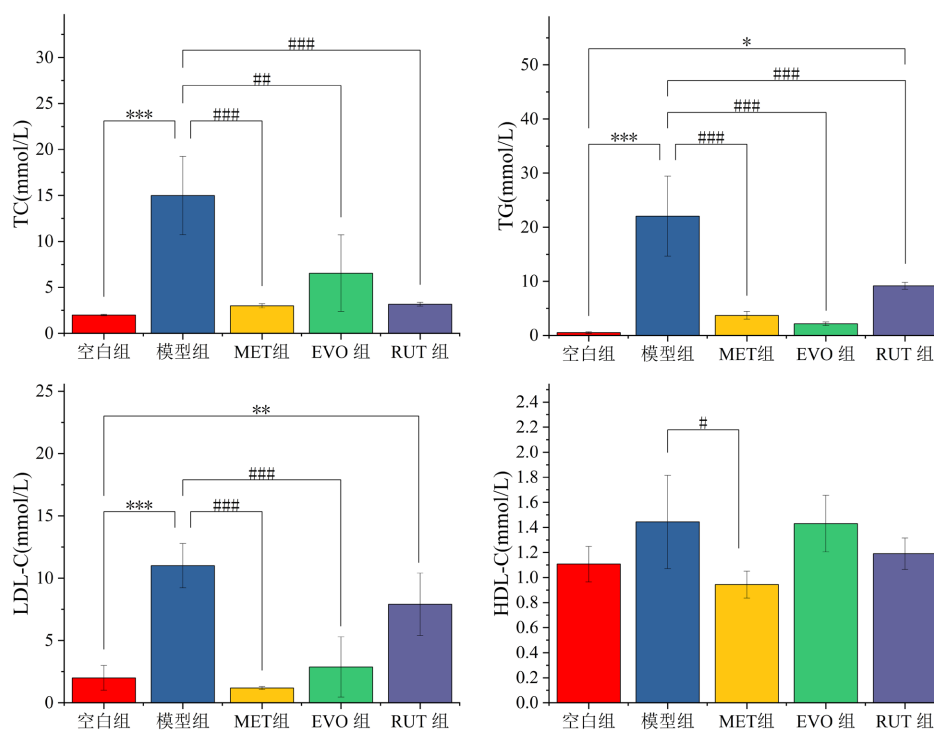


Figure 1. Effect on FBG levels in T2DM rats

图 1. 对 T2DM 大鼠 FBG 水平的影响



注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与 2 型糖尿病模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ 。以下均同。

Figure 2. Effect on blood lipids in T2DM SD rats

图 2. 对 T2DM SD 大鼠血脂的影响

RUT 组 TG、LDL-C 水平也显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组相比,发现 MET 组 TC、TG、LDL-C 水平均显著下降;EVO 组 TC 和 LDL-C 水平也显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);此外,RUT 组的 TC 和 TG 水平也表现出了显著的降低($P < 0.05$)。结果表明 EVO、RUT 能在一定程度上改善 T2DM SD 大鼠的血脂代谢异常。

3.3. 对 2 型糖尿病大鼠肝脏糖代谢的影响

肝脏是胰岛素作用的重要靶器官,通过调节糖原的合成与分解、糖异生等途径维持葡萄糖代谢的稳态和平衡[10],T2DM 会导致肝脏糖代谢紊乱。如图 3 所示,与空白组相比,模型组的肝糖原含量、GS 和 G-6-Pase 水平均出现了显著上升($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$);MET 组和 EVO 组 GS 和 G-6-Pase 水平均显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比,发现各给药组的肝糖原、GS、G-6-Pase 水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$ 或 0.001),结果表明 EVO 和 RUT 在一定程度上具有改善 T2DM 引起的肝脏糖代谢异常的治疗效果。

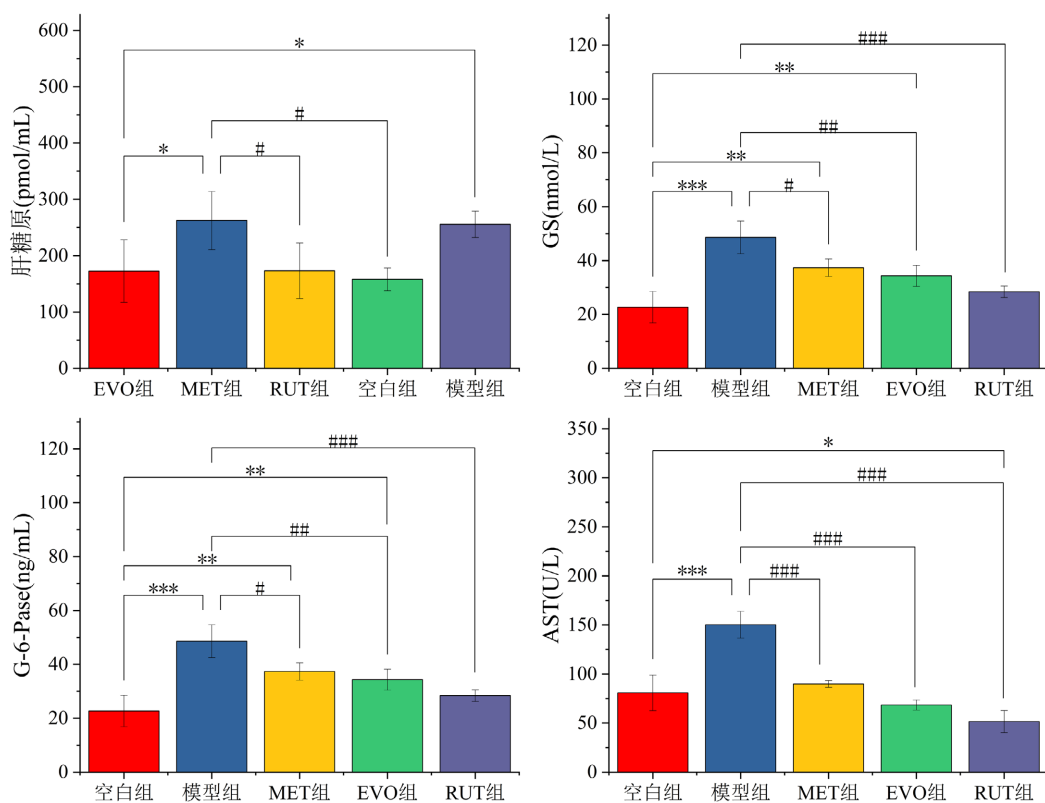


Figure 3. Effects on liver glucose metabolism and AST in T2DM SD rats

图 3. 对 T2DM SD 大鼠肝脏糖代谢和 AST 的影响

3.4. 对 T2DM 大鼠 AST 的影响

如图 3 所示,与空白组相比,模型组 AST 水平呈现出显著升高的趋势($P < 0.05$);而 RUT 组 AST 水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组相比,发现 MET 组、EVO 组和 RUT 组大鼠的 AST 水平极显著降低($P < 0.001$)。EVO、RUT 均具有降低 AST 水平的能力。

3.5. 对 T2DM 大鼠肝脏组织病理学的影响

T2DM 肝损伤,伴随肝细胞膜胰岛素受体数量减少及亲和力降低,导致胰岛素代谢障碍[11]。图 4 的

HE 染色显示：空白组肝细胞形态正常，无脂肪变；模型组肝细胞显著脂肪变，伴脂滴空泡及炎症细胞浸润；MET 组肝细胞脂肪变伴脂滴空泡；EVO 及 RUT 组肝细胞脂滴空泡及炎症浸润减轻，且 RUT 组改善更显著。PAS 染色示：模型组肝糖原沉淀减少，而 MET、EVO 及 RUT 组肝糖原沉淀增多，表明糖储存能力提升，利于葡萄糖调节。EVO 与 RUT 在减轻 T2DM 大鼠肝细胞脂肪变、炎症浸润及改善肝糖原释放方面优于 MET，有效缓解肝损伤。

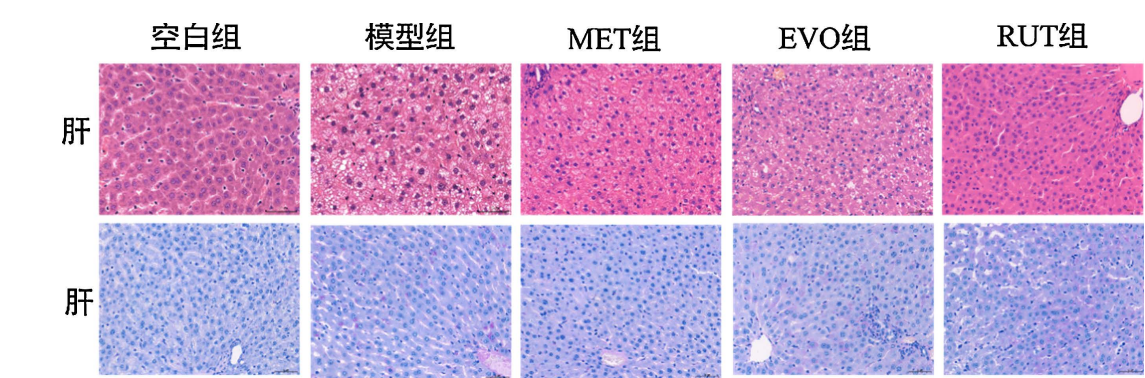


Figure 4. Histopathological characteristics of liver (HE staining × 400; PAS staining × 400)
图 4. 肝脏组织病理特征(HE 染色 × 400; PAS 染色 × 400)

4. 总结与讨论

本研究通过高脂高糖饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素的方法，成功建立了 T2DM SD 大鼠肝损伤模型，并探究了吴茱萸碱与吴茱萸次碱对 T2DM 肝损伤的治疗潜力。实验结果显示，吴茱萸碱和吴茱萸次碱能有效调控 T2DM 大鼠的血糖水平，并能在一定程度上缓解体重的非正常减轻。在血脂代谢方面，吴茱萸碱和吴茱萸次碱均能显著降低 T2DM 大鼠的 TC、TG 和 LDL-C 水平，从而在一定程度上改善血脂代谢异常。此外，吴茱萸碱和吴茱萸次碱能显著降低 T2DM 大鼠的肝糖原含量 GS 和 G-6-Pase 水平，表明它们在一定程度上具有改善 T2DM 引起的肝脏糖代谢异常的治疗效果。同时，吴茱萸碱和吴茱萸次碱还能显著降低 T2DM 大鼠的 AST 水平，这进一步证实了它们对肝脏的保护作用。在肝脏组织病理学方面，HE 染色和 PAS 染色结果显示，吴茱萸碱和吴茱萸次碱能显著减轻 T2DM 大鼠肝细胞的脂肪变性和炎症浸润，增加肝糖原的沉淀，从而改善肝脏的糖储存能力和葡萄糖调节功能。

综上所述，吴茱萸碱和吴茱萸次碱在 T2DM 肝损伤的治疗中展现出巨大的潜力。今后可以进一步深入探究其作用机制、优化给药方案，并开展更为全面的安全性和有效性评估，以期为其临床应用提供更加充分的证据。

基金项目

吴茱萸与黄精药食两用有效成分群大健康片剂研发(黔科合支撑[2023]一般 239)。

参考文献

[1] 侯佳慧, 陈美娟, 赵新兰. 血清 Sestrin2 和 Nrg-4 在 2 型糖尿病合并冠心病患者中的表达及诊断价值分析[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2024, 16(10): 1257-1260.

[2] 李宝花, 亢泽峰, 侯昕玥, 等. PI3K/AKT 通路在糖尿病视网膜病变中的调控作用[J]. 国际眼科杂志, 2024, 24(9): 1426-1431.

[3] 刘东齐, 闫仕祺, 刘浩龙, 等. 芍药苷对糖尿病周围神经病变状态下线粒体输入途径蛋白 TOM20 的作用[J]. 中草药, 2024, 55(9): 2987-2995.

-
- [4] 秦李娜, 喻嵘. 黄芩-黄连药对及其活性成分治疗糖尿病肾病的作用机制研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2024, 58(10): 89-94.
 - [5] 邹玉卿, 施红, 刘欣, 等. 基于 NF- κ B/NLRP3/IL-1 β 信号通路探讨石斛合剂对糖尿病伴非酒精性脂肪性肝病大鼠细胞炎症反应及凋亡的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(18): 78-86.
 - [6] 李向阳, 焦太强, 韩兴稷, 等. 基于 Keap1-Nrf2 信号通路研究补青颗粒对 2 型糖尿病大鼠肝损伤的保护作用及机制[J]. 宁夏医科大学学报, 2024, 46(6): 547-553.
 - [7] 赵晓梅, 程宇欣, 梁彩霞, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的吴茱萸化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 113-126.
 - [8] 杨春启, 连闻雨, 王宇光, 等. 吴茱萸碱药理与毒理研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(20): 5218-5225.
 - [9] 张煜皓, 李依宁, 姜新海, 等. 吴茱萸次碱改善 MAFLD 小鼠脂肪肝和骨质疏松的作用[J/OL]. 药学学报, 1-10. <https://link.cnki.net/doi/10.16438/j.0513-4870.2024-0907>, 2024-12-19.
 - [10] 卜祥伟, 郝晓晖, 张美珍, 等. 基于高通量测序研究清润方改善 2 型糖尿病大鼠肝脏胰岛素抵抗的作用机制[J]. 世界中医药, 2024, 19(11): 1599-1607+1613.
 - [11] 胡朝妙, 廖晗禹, 姜盛铭, 等. 玉屏风散调控 IRS/PI3K/Akt 通路对 2 型糖尿病大鼠肝脏胰岛素抵抗的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(12): 3280-3287.